Aus der Universitäts-Kinderpoliklinik in München.
Vorstand: Geheimer Medizinalrat Professor Dr. C. SEITZ.

Über das Blutbild experimentell rachitischer Ratten nach Zugaben von Cholesterin zur Kost.

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde

in der gesamten Medizin

verfaßt und

einer hohen medizinischen Fakultät der

Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

KRESTU PENTSCHEFF
aus Schumen/Bulgarien.

München 1927

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Die pathologische Veränderung an den Knochen, die sich hauptsächlich in mangelhafter Verkalkung der osteoiden Gewebe manifestiert, wird als Hauptsymptom der rachitischen Erkrankungen aufgefaßt. Rachitis als solche aber ist eine allgemeine Erkrankung des wachsenden Organismus, deren tiefere biologische Ursachen noch nicht klar genug erkannt sind. Wohl wissen wir, daß die Veränderungen am Skelettsystem durch mangelhafte Ablagerung von anorganischen Salzen und zwar hauptsächlich der Kalk- und Phosphorsalze bedingt sind. Auch daß Lebertran eine treffliche Wirkung als Heilmittel gegen Rachitis hat, ist seit langer Zeit bekannt.

Warum lagern aber bei der Rachitis die neugebildeten Skeletteile keine oder wenig anorganische Salze ein und wie kann man sich die Heilwirkung des Lebertrans erklären? Der erste Gedanke der am nächsten lag war: es sei ein Mangel an Kalk- und anorganischen Salzen in der Nahrung an der Rachitis Schuld. Die Wirkung des Lebertrans aber erklärt man sich so, daß er der Ausscheidung der Kalksalze in dem Enddarm begegne, oder daß er durch seine Oxygruppen als Kalkfänger im Organismus wirke (Freudenberg, Schloss). Diese Vorstellung über die Entstehung der Rachitis hatte sich überlebt als man sah, daß die mit Vollmilch überfütterten Kinder das Hauptkontingent der Rachitiskranken darstellten. Auch der Versuch das Auftreten und den Verlauf der Rachitis durch Darreichung von Kalk- und Phosphorsalzen zu beeinflußen, versagte. Man hat auch die anderen Organsysteme des Rachitikers auf ihren Kalkgehalt untersucht, fand aber fast überall normale Verhältnisse.

Es könnte zweitens eine besondere krankhafte Beschaffenheit des im Wachstum begriffenen Skelettgewebes selbst die Mineralisierung verhindern. Die sehr interessanten Versuche von Pfaundler zeigten, daß durchspülter gesunder Knorpelknochenbrei von einer neu-

tralen Calciumchloridlösung die Calcium-Jonen gierig an sich zu reißen und sich mit ihnen chemisch zu verbinden, fähig ist. Der osteoporotische Knochen verhält sich gegen Calciumchloridjonen wie ein durchspülter gesunder Knochen. Dagegen verhält sich das rachitische Knochenknorpelmaterial in $CaCl_2$ Lösung fast indifferent und ist nicht fähig sich mit Ca-Jonen chemisch zu verbinden. Daraus mußte der Schluß gezogen werden, daß in den rachitischen Knochenknorpelteilen Veränderungen aufgetreten sind, die der Verkalkung der osteoiden Gewebe hemmend entgegenwirken. A. Hartmann erweiterte die Versuche, in dem sie zeigen konnte, daß eine Verkalkungsbehinderung von rachitischen gegenüber nicht rachitischen in Kaninchenbauchhöhle eingeheilten Knorpelstücken nicht zu erweisen ist. Die primäre Ursache für die mangelhafte Verkalkung des Skelettsystems müßte also nicht im Knochengewebe selbst, sondern im Gesamtstoffwechsel des Organismus zu suchen sein.

Freudenberg und Gyorgy haben Untersuchungen an Blut und Harn von gesunden und rachitiskranken Kindern vorgenommen und fanden im Blute von Rachitikern fast normalen Calciumgehalt, dagegen eine deutliche und konstante Verminderung des Phosphorgehaltes. Der Urin der Rachitiker wies weiter deutlich hin auf eine vermehrte Phosphor- und Ammoniakausscheidung. Man hat also bei Rachitis eine Hypophospataemie im Blute nachgewiesen. Wenn wir aber bedenken, daß Phosphor als Stoffwechselförderer im Organimus gilt, sind wir gezwungen anzunehmen, daß diese Hypophosphataemie sich in einer Verlangsamung des Stoffwechsels auswirkt. Eine Folge davon wäre die Acidose des Blutes. Denn bei Stoffwechselverlangsamung müßte rein theoretisch die Entstehung der Endprodukte gegenüber den saueren Charakter tragenden Zwischenprodukten verzögert sein. Je schneller eine Reaktion verläuft, um so weniger Zwischenprodukte treten auf, je langsamer — desto mehr. Die Untersuchungen des Blutes von Rachitikern zeigten freilich, daß das Blut seinen alkalischen Charakter nicht verliert — die Acidose konnte man also im Blute nicht nachweisen. Es blieb übrig

anzunehmen, daß der Organismus der Entstehung der Acidose in der Weise begegnet, daß er die saueren Zwischenprodukte rechtzeitig ausscheidet — mit anderen Worten also die Acidose kompensiert. Die vermehrte Ammoniak- und Phosphorausscheidung im Harn wird als Zeichen dieser kompensierten Acidose gedeutet. Ein Teil dieser saueren Zwischenprodukte wird auch in den Knochen abgelagert und so entstehen diejenigen Veränderungen an dem Knochen, die für die weitere Verkalkung derselben hemmend wirken. Weiter fanden Freudenberg und Gyorgy, daß der Milchsäurespiegel im Blute von Rachitikern gesenkt ist. Da die Milchsäuere im Blute aber in erster Linie aus der Glykolyse im Gewebe herrühren dürfte, bedeutete dieser Befund einen Nachweis der Glykolysehemmung im Gewebe. So kann man die von beiden Autoren festgestellte Stoffwechselverlangsamung als Hypophosphataemie, Glykolysehemmung und Hypolactacitaemie genauer definieren.

Es steht außer Zweifel, daß die wesentlichen Veränderungen im Stoffwechsel des Organismus hauptsächlich in Beziehung zu seinem Phosphor- und Calciumgehalt stehen, welche ihrerseits als Ursache für die Wachstumsstörungen in Betracht kommen. Diese Stoffwechselveränderungen sind stets in konstitutionell vererbbarer Bereitschaft bedingt (Czerny), wenn auch für ihr Zustandekommen äußere Momente notwendig sind. Als „äußere Momente" spielen eine sehr wichtige Rolle Sonnenlicht, Luft, Bewegung, Domestikationsverhältnisse, mütterliche Protektion usw. Den Beweis dafür finden wir in der Tatsache, daß Rachitis in den tropischen Zonen nicht vorkommt, daß sie eine Winterkrankheit ist und hauptsächlich die Proletarierkinder befällt, die ja bekanntlich bei schlechtesten äußeren Bedingungen heranwachsen.

Die Frage aber, wie man die heilende Wirkung des Lebertrans mit Hypophosphataemie und Stoffwechselstörungen in Zusammenhang bringen kann, blieb offen.

Durch passend gewählte Kost gelang es dem amerikanischen Forscher Mac Collum und Mitarbeitern bei Ratten experimentelle Rachitis zu erzeugen mit allen Kardinalsymptomen derselben: Rosenkranz, weiche Epiphysen usw. Das wesentliche in der von Mac Collum empirisch gefundenen rachitiserzeugenden Kostarten ist die unzweckmäßige Zusammenstellung der anorganischen Bestandteile der Nahrung, hauptsächlich ihres Calcium- und Phosphorgehaltes. Man hat ja bei der Untersuchung des Blutes von Rachitikern gefunden, daß der Phosphorgehalt regelmäßig vermindert, Calciumgehalt dagegen fast normal geblieben ist. Die schweren, mit Tetanie einhergehenden Fälle zeigten aber wieder das umgekehrte Verhältnis zwischen Calcium und Phosphor. So wurde angenommen, Ca und P können von dem Organismus nur dann richtig verwertet werden, wenn sie in der Nahrung in einem bestimmten Verhältnis zueinander enthalten sind. Mac Collum fand ein Verhältnis von Ca : P wie 1 : 0,6 als Optimum für das Gedeihen wachsender Ratten. Wenn er sich von diesem Optimumverhältnis entfernte, kam er zu Kostformen, die rachitische Skelettveränderungen hervorriefen. Andere Forscher wieder (K. Funk) haben ähnliche Kostarten mit Ca-Uebergebot und P-Untergebot konstruiert, die aber in Bezug auf die anderen Substanzen etwas anders zusammengestellt waren und haben gezeigt, daß es durch so konstruierte Nahrungen nicht immer möglich war, experimentelle Rachitis zu erzeugen. Es war also nicht nur das Verhältnis zwischen Ca- und P-Gehalt das die Mac-Collumkost rachitiserzeugend machte, sondern es fehlte etwas, was eben sonst die Entstehung der Rachitis verhüten müßte, also ein „antirachitischer Faktor". So betonte auch Mac Collum, daß in der Wirksamkeit seiner Nahrung das Fehlen eines rachitischen Heilfaktors von ausschlaggebender Bedeutung ist. Die best wirksame Mac-Collum-Kost Nr. 3143 besteht aus: 33 % Mais, 33 % Weizen, 1 % NaCl, 15 % Weizenkleber, 15 % Gelatine, 3 % Calciumkarbonat. Es ist auffallend, daß diese Nahrung kalorisch sehr reich ist. Wachstumsvitamine enthält sie

genügend, da die typische Krankheit bei Mangel an Vitamin A Xerophthalmie nicht dabei vorkommt. Der Ca-Gehalt beträgt 1,221 gr, der Phosphorgehalt 0,3019 in 100 gr Substanz gegenüber einem Optimum von 0,64 gr Calcium und 0,4 P. Die Kost enthält damit doppelt soviel Ca als notwendig, ihr P-Gehalt macht drei Viertel des Wachstumsbedarfes aus. Die Rachitis wird also nach Mac Collum durch die unzweckmäßige Zusammenstellung des Ca- und P-Gehaltes und durch Fehlen des „antirachitischen Faktors" in der Nahrung erzeugt.

Man hat bezweifelt, daß experimentelle Rachitis mit der Rachitis der wachsenden Kinder identisch sei und meinte, wie Christeler besonders betonte, es handle sich bei den Knochenveränderungen nur um besondere Formen einer „Osteodöstrophia fibrosa". Man zweifelt überhaupt an der Möglichkeit an Laboratoriumstieren experimentell Rachitis erzeugen zu können. Maurer neigt zur Annahme, daß es sich bei der experimentellen Rattenrachitis lediglich um eine Imitation des spontanen Krankheitsvorganges handeln könne, mit allen den Fehlern und Schwächen einer solchen wie sie eben bestehen bleiben müssen solange die vielfach wirksamen Kräfte für die Entstehung der Rachitis noch nicht in ihrer Gesamtheit erfaßbar geworden sind. In der letzten Zeit einigen sich die Rachitisforscher immer mehr dahin, daß zwischen der an Ratten erzeugten experimentellen Rachitis und der Säuglingsrachitis weder in histologischer Hinsicht noch sonst prinzipielle Unterschiede bestehen.

Wenn die Versuchsratten mit der obengenannten Mac Collumkost gefüttert werden und gleichzeitig Lebertran als Zulage bekommen, so erkrankten die Tiere an Rachitis nicht. Schon nach einigen Tagen gelingt es auf der Röntgenplatte die Kalkablagerungen in den Knochen nachzuweisen. Diese spezifische Wirkung des Lebertrans gegen Rachitis erklärte man sich durch das Vorhandensein eines Ergänzungsnährstoffes (Vitamin), der im Lebertran vorhanden sein müsse. Man fand in Lebertran, in der Butter, fettlösliche Ergänzungsnähr-

stoffe — Lipovitamine —, die als Einheit unter den Namen Vitamin „A“ aufgefaßt wurden. Man hat einige Zeit die Rachitis mit diesen A-Vitaminen in Zusammenhang gebracht und behauptete, Rachitis sei eine A-Vitaminose. Dabei stützte man sich hauptsächlich auf die Untersuchungen Mellanbys an Hunden.

Als erste nahmen deutsche Pediater (Klotz u a.) gegen diese Annahme Stellung und wiesen auf die wichtige Tatsache hin, daß gerade die Ueberfütterung mit Vollmilch als einer Kost, die genügend Faktor „A“ enthält, die Rachitis begünstigt, während bei einer zweckmäßigen Ernährung mit Milchverdünnungen und Kohlehydratzulage sich niemals ähnlich schwere Veränderungen beobachten lassen. Der Zusammenhang zwischen dem eigentlichen Faktor „A“ und Rachitis verliert weiter an Wahrscheinlichkeit, wenn man bedenkt, daß Rachitis durch ultraviolette Strahlen beeinflußt wird, während die Xerophthalmie, die wohl tatsächlich durch A-Vitaminmangel bedingt ist, wie das Körperwachstum von ultravioletten Licht unbeeinflußt bleibt. Die ultravioletten Strahlen können also gewissermaßen das antirachitische Prinzip, nicht aber das im Lebertran vorhandene keratomalazieverhütende Prinzip (Vitamin „A“) ersetzen. Endlich gelang es Mac Collum, Simonds. Bekker, Schipley zu zeigen, daß durch Durchleiten von Luft durch auf 100° erhitzten Lebertran das Vitamin „A“ darin vollständig intaktiviert wird, während der größte Teil des antirachitischen Prinzips erhalten bleibt.

So hat es sich gezeigt, daß die als Einheit unter dem Namen Vitamin „A“ zusammengefaßten fettlöslichen Ergänzungsnährstoffe aus zwei nach ihrer Wirkung verschiedenen Faktoren bestehen: Keratomalazie- und Xerophthalmie verhütender Faktor, das eigentliche Vitamin „A“ und ein spezifisch gegen Rachitis wirkender Faktor, der von K. Funk Vitamin „E“ genannt wurde. Alle Bemühungen die beiden Vitamine auf chemischem Wege zu trennen und in reiner, wirksamer Form zu erhalten blieben bis jetzt erfolglos. Allerdings kann man sie in konzentrierter Form gewinnen, wenn man sie von den übrigen Bestandteilen des Lebertrans

isoliert. Sie bleiben dann in dem unverseifbaren Anteil zurück, von wo sie durch weitere Bearbeitung mittels organischer Lösungsmittel in konzentrierter Form zu gewinnnen sind. Der antirachitische Faktor wurde nur in Lebertran und Butter nachgewiesen — er fehlte in allen übrigen Oelen.

Ueber das Wesen des antirachitischen Faktors ist man bis heute noch nicht im klaren. Es wurde schon erwähnt, daß Sonnenlicht und Ultraviolettstrahlen einen günstigen Einfluß auf die Rachitis ausüben. Man müßte also annehmen, daß der antirachitische Faktor sich unter Strahlenwirkung im tierischen Körper irgendwie bilden kann, was eigentlich gegen die Annahme spricht, daß es sich um ein „Vitamin" handeln kann. Bekanntlich bilden sich die Vitamine synthetisch ja nur im pflanzlichen Organismus. Die Bestrahlung rachitiskranker Tiere ist der Ausgangspunkt vieler Versuche geworden. So haben zwei amerikanische Forscher (Nelson und Steenbock) in einem zweistöckigen Käfig zwei Ratten mit ultraviolettem Licht so behandelt, daß die obere Ratte bestrahlt, die untere unbetrahlt gelassen wurde. Die beiden Ratten bekamen gleichzeitig rachitiserzeugende Kost. Es stellte sich dabei die merkwürdige Tatsache heraus, daß die unbestrahlte untere Ratte ebensowenig an Rachitis erkrankte wie die des ultravioletten Lichtes ausgesetzte Ratte. Der Versuch wurde wiederholt und zwar umgekehrt — es wurde diesmal die obere Ratte unbestrahlt gelassen, die untere wurde bestrahlt. Jetzt blieb die nicht bestrahlte Ratte unbeeinflußt und zeigte rachitische Veränderungen an den Knochen. Diese merkwürdige Tatsache würde so erklärt, daß die bestrahlten Exkremente der oberen Ratte beim ersten Versuch von der unteren Ratte gefressen wurden und als Antirachitikum wirkten. Durch ultraviolette Strahlen wurden also die Exkremente der Ratte zu einer antirachitischen Kost aktiviert. In ähnlichem Sinne hat sich herausgestellt, daß viele Nahrungsstoffe durch Bestrahlung der Quarzlampe sich aktivieren lassen und dadurch mehr oder weniger antirachitische Wirksamkeit annehmen.

Maurer hat sehr günstigen Einfluß auf die Rachitis durch mit ultraviolettem Lichte bestrahltes Sesamöl beobachtet. Gyorgy berichtet, daß durch Bestrahlung die Trockenmilch Fähigkeiten annimmt, die sich in einer günstigen Beeinflussung der rachitischen Stoffwechselstörung kundgeben. Dabei spricht er von einer „Jecorisation" der Milch, womit er auch zum Ausdruck bringen will, daß ultraviolette Strahlen und Lebertran vielleicht in der Tat ein gemeinsames antirachitisches Prinzip besitzen. Auch S. J. Cowell berichtet über Heilung der Rachitis mit bestrahlter Milch. Man hat auch verschiedene Oele und Fette bestrahlt und fand, daß die Mineralöle sich nicht aktivieren lassen, während fast alle tierischen und pflanzlichen Fette und Oele durch Bestrahlen mehr oder weniger aktiviert werden.

Bosany untersuchte die biologische Funktion des Knochenmarks und fand, daß das Knochenmark einen Faktor enthält, dessen Vorhandensein in der Rattenkost die Entstehung von rachitischen Skelettveränderungen verhütet. Das Fehlen dieses Faktors wird nach Bosany durch Hypofunktion des Knochenmarks bedingt — diese Hypofunktion bildet also nach seiner Ansicht das primäre Moment der Rachitis. Im hemopoetischen System ist diese Substanz außer im Mark, auch in der Milz in geringen Mengen gefunden worden. Das Knochenmark rachitiskranker Tiere soll diesen Faktor nicht enthalten.

Der antirachitische Faktor muß im Lebertran sehr stark vertreten sein, denn der Tran hat bekanntlich starke antirachitische Wirksamkeit. Wir haben gesehen, daß auch andere tierische und pflanzliche Oele und Fette sich durch ultraviolette Strahlen aktivieren lassen und gewissermaßen auch als Antirachitikum gelten können — manche vielleicht sogar besser als Lebertran wirken. Weiter wissen wir, daß die direkte Bestrahlung rachitischer Tiere mit Quarzlampe sich in einer günstigen Beeinflussung der Rachitis auswirkt. Wenn wir bedenken, daß die ultravioletten Strahlen höchstens ein paar Millimeter in die Haut eindringen können, so müssen wir annehmen, daß die wirksamen antirachitischen Stoffe durch die Bestrahlung in der Haut entstehen.

Die Wirkung der Bestrahlung auf die Knochen kann nur darauf beruhen, daß dieser antirachitischer Faktor, der sich in der Haut gebildet hat, durch den Blutstrom zu den Knochen geleitet wird. Es müßten also in der Haut wie in den tierischen und pflanzlichen Fetten irgendwelche Stoffe vorhanden sein, die gemeinsam wären und die unter dem Einfluß des ultravioletten Lichtes in eine neue chemische Form umgewandelt werden. Solche gemeinsame Stoffe sind eigentlich nur die Cholesterinkörper. Im Tierreich finden wir besonders das Cholesterin, während im Pflanzenreich eine große Anzahl Sterine bekannt sind, deren häufigster Vertreter das Phytosterol ist.

Das Cholesterin ist ein Fettstoff, dessen genaue Konstruktion uns noch nicht bekannt ist. Im wesentlichen ist aber seine Struktur die eines aromatischen einwertigen Alkohols mit der Formel: — $C_{27}H_{45}OH$. Er scheint im tierischen Organismuß eine wichtige physiologische Funktion zu haben, denn er findet sich fast in allen Organsystemen — auch in Eigelb, Harn, Galle, Blut. Er bildet glashelle rhombische Tafeln, ist in Wasser unlöslich, dagegen in heißem Alkohol, in Aether und Chloroform löslich.

Die Versuche mit reinem Cholestrin haben gezeigt, daß Cholesterin sowohl als Wachstumsfaktor, als auch gegen Rachitis vollkommen unwirksam ist, in größeren Mengen genommen, sogar schädlich wirkt.

Zucker, Pappenheimer und Barmett verseiften Lebertran und entfernten aus dem unverseifbaren Anteil einen erheblichen Teil des Cholesterin, wodurch sie einen außerordentlich wirksamen Rückstand bekamen. Sie sprechen die Vermutung aus, daß dieser wirksame Stoff, wenn nicht direkt ein Sterin, so doch ein Abkömmling von Cholesterin sein kann.

Hess und seinen Mitarbeitern gelang es durch halbstündige Bestrahlung einer 1 % Emulsion von Phytosterin oder Cholesterin in Wasser bei 40 cm Lampenabstand ein hoch wirksames Präparat zu erhalten, von dem 0,1 ccm schon genügte, um Rachitis zu verhüten oder zu heilen. Diese Entdeckung ist dann von

Drummond, O. Rosenheim und K. H. Coward bestätigt worden und gleichzeitig dahin erweitert worden, daß eine zulange Bestrahlung wieder eine Verminderung und schließlich Zerstörung der antirachitischen Wirkung herbeiführt.

Hess konnte aus bestrahlten Cholesterinlösungen ein gelbliches Harz isolieren, das sehr stark wirksam war und sich von dem Ausgangsprodukt durch eine besondere Absorption des ultravioletten Teiles des Spektrums auszeichnet. Er vermutet darin ein Oxydationsprodukt des Cholesterins, das jedoch nicht mit dem gewöhnlichen Oxycholesterin identisch ist. Bezeichnender Weise werden die Dihydrosterine nicht durch Bestrahlung beeinflußt und zeigen auch keine Veränderung im Lichtspektrum.

Es wurde weiter gefunden, daß bestrahltes Cholesterin mit Eisessig und konzentrierter Schwefelsäure eine Farbreaktion gibt, die weder dem reinen Cholesterin, noch dem bekannten Oxycholesterin eigen ist.

Schon vor 30 Jahren haben Darmstädt und Lifschütz ein Oxycholesterin in Vollfett gefunden, das ähnliche Reaktion gab. Dieses Oxycholesterin ist von Lifschütz vor 19 Jahren auch im Knochenmark nachgewiesen worden.

Es wird angenommen, daß die Sauerstoffanlagerung bei diesem antirachitisch wirkenden Oxycholesterin an der Doppelbindung geschieht, denn die Untersuchungen von Hess zeigten, daß die hydrierten Cholesterine nicht nur wirkungslos sind, sondern auch durch die Bestrahlung in keiner Weise beeinflußt werden. Darauf deutet auch die Beobachtung von H. v. Euler und Wider, daß jodierter Lebertran wirkungslos ist Diese letzte Beobachtung kann man sich so erklären, daß Jod aus den organischen Oxyden Sauerstoff abspaltet, wobei Jod oder Jodwasserstoff an dessen Stelle tritt.

Um den Nachweis dieser qualitativen Veränderung des Cholesterins zu führen und auch vor allem einen Aufschluß über deren qualitativen Umfang zu erhalten, hat Beumer untersucht, ob bei Bestrahlung Verluste der Cholesterinsubstanz eintreten. Er bediente sich

dabei der Fällung des Cholesterins mit Digitonin. Es ergab sich nach zweistündiger Bestrahlung eine Abnahme der Digitoninfällung um 8,1 %, nach 20 stündiger Bestrahlung eine solche um 9,5 %. Es ist damit der Beweis erbracht, daß Cholesterin durch Bestrahlung einen merklichen Anteil seiner Digitoninfällbarkeit einbüßt, also in seiner Struktur verändert sein muß. Die Versuche Beumer's zeigten allerdings, daß selbst lange bestrahltes Cholesterin zum weitaus größten Teil seine Digitoninfällbarkeit behält, vermutlich also in dieser Beziehung unverändert bleibt. Hess aber hatte gefunden, daß nach längerer Bestrahlung das Cholesterin seine antirachitische Wirkung verliert — denn, selbst, wenn man annimmt, daß nach Ueberschreiten des die wirksame Substanz erzeugenden Bestrahlungsoptimums das aktivierte Cholesterin in eine unaktive Form übergeht, so wäre nach diesem Versuche noch genügend intaktes Cholesterin zur neuerlichen Ueberführung in aktives durch weitere Bestrahlung vorhanden. Beumer kam zu dem Schluß, daß die aktive Phase ein Uebergang zwischen zwei unaktiven Zuständen ist.

Wollen wir unsere heutigen Kenntnisse über das Wesen der Rachitis zusammenfassen, so müssen wir zunächst feststellen, daß der einfache Mangel an Kalk und Phosphor, oder an beiden höchstens Osteoporosis, niemals aber echte Rachitis hervorrufen kann. Wirkliche Rachitis trat nur ein, wenn der antirachitische Faktor fehlt und gleichzeitig die Lebensbedingungen derartig sind, daß dieser Faktor weder durch die Nahrung zugeführt, noch im Körper nachgebildet werden kann. Dieser antirachitische Faktor wirkt wahrscheinlich direkt auf die knochenbildenden Zellen, besonders auf die Knochenkerne ein. Er besteht wahrscheinlich aus einem Cholesterinoxyd, das sich aus Cholesterin oder Phytosterin durch Sauerstoffanlagerung, nicht aber durch gewöhnliche Oxydation bildet. Deshalb ist zur Bildung dieses Faktors die Einwirkung von Ozon auf Cholesterin notwendig. Er entsteht also nur da, wo ultraviolettes Licht in genügender Stärke bei Luftzutritt auf Cholesterinkörper einwirken kann. Ist die Doppelbindung

in Cholesterin blockiert, so kann dieses Oxyd nicht entstehen und die Bildung unterbleibt. Das fertige Oxycholesterin kann durch Reduktionsmittel oder durch freies Jod — wobei wahrscheinlich der Sauerstoff herausgerissen wird — oder durch weitere Oxydation zerstört werden. Unter diesen Verhältnissen stehen wir vor der eigentlichen Tatsache, daß der antirachitische Ergänzungsstoff wohl wie alle anderen Ergänzungsstoffe von außen mit der Nahrung zugeführt werden kann, daß er aber im Gegensatz zu den eigentlichen Ergänzungsstoffen unter dem Einfluß des ultravioletten Lichtes auch im Hautfett der Tiere entstehen kann. Hier scheint ein prinzipieller Unterschied zwischen den eigentlichen „Ergänzungsstoffen" und dem „antirachitischen Stoff" vorzuliegen.

In Wirklichkeit wird auch dieser Ergänzungsstoff nicht vom Tierkörper syntesiert, sondern unabhängig vom tierischen Leben unter dem Einfluß des ultravioletten Lichtes selbst nach dem Tode des Tieres in der Haut aus Stoffen (Sterine) gebildet, die schließlich auch nicht vom Tierkörper aufgebaut werden können, sondern aus dem Pflanzenreich bezogen werden müssen. Der Unterschied beschränkt sich also darauf, daß beim Entstehen des antirachitischen Faktors die letzte Reaktion im Tierkörper stattfinden kann, aber auch dort nicht durch das tierische Leben, sondern wiederum durch die direkte Einwirkung der Sonnenenergie entsteht.

Dieser antirachitische Stoff wird in physiologischer Hinsicht nur in winzigen Mengen gebraucht, er ist fettlöslich und kam mit den Körperfetten nur in Leber, Knochenfett und Milchfett gespeichert vor.

Bis jetzt haben wir versucht die Pathogenese und überhaupt das ganze Rachitisproblem auf Grund des Kardinalsymptoms zu klären. Es werden aber in der letzten Zeit Versuche gemacht, auch andere greifbare Rachitissymptome zur Lösung der Rachitisfrage zu verwerten. Bekanntlich gehen schwere rachitische Erkrankungen fast immer mit einer von Jaesch und Hajem zuerst festgestellte Anaemie einher — mit der Anaemia pseudoleucaemica infantum. Das Wesen dieser

Anaemie äußert sich im Auftreten von pathologischen jugendlichen Blutformen, hauptsächlich das Auftreten von kernhaltigen roten Blutkörperchen und Auftreten von Myelocyten und Myeloblasten im Blutbilde. Es zeigt sich auch eine große Mononucleose bis zu 20%, Polychromasie und Poikilocytose; ferner basophile Körnelung und Zerfall bei polymorphkernigen Leukocyten. Auch eine mäßige Leukocytose und Verminderung des Chromatingehaltes wird beobachtet.

E. Maurer zeigte durch zahlreiche Versuche an weißen Ratten, bei denen mit Mac Collum-Kost Nr. 3143 experimentell Rachitis erzeugt wurde, daß das Blutbild rachitiskranker Tiere regelmäßig pathologische Veränderungen aufweist, die zur Jaesch-Hajemischen Anaemie gewisse Beziehungen aufweisen. Die rachitischen Tiere zeigen im Blutbild ein regelmäßiges Auftreten von Normoblasten bis 35 und mehr auf 1000 weiße Zellen, weiter Auftreten von Myelocyten und Polychromasie. Auch die großen Mononucleären fand man vermehrt. Die absolute Zahl der roten und weißen Zellen bleibt dagegen normal. Auch den Haemoglobingehalt fand man ziemlich unverändert. Das Wichtigste ist aber, daß diese Blutveränderung Hand in Hand mit Entstehung und Entwicklung der rachitischen Erkrankung geht. Die Kontrolltiere zeigten im Laufe des Versuches keine abnormen Veränderungen im Blute.

Es wurde weiter festgestellt, daß Tiere, die mit Mac Collum-Kost gefüttert wurden und Lebertran oder bestrahltes Cholesterin als Zulage bekamen, parallel mit dem Heilungsgrad des Knochensystems auch eine Veränderung im Blutbilde im Sinne einer Heilung zeigten. Das pathologische Blutbild also, das bei experimenteller Rachitis der Ratten regelmäßig auftritt und sich durch die verschiedenen Antirachitica beeinflußen läßt, muß mit der Rachitis im genetischen Zusammenhang stehen. Noch mehr — wir könnten das Blutbild als ein Symptom auffassen das uns mehr auf die biologische Gesamterkrankung des Organismus hinweist als nur auf die Knochenveränderungen.

Unter Leitung von E. Maurer haben wir an der Münchener Kinder-Poliklinik Versuche angestellt um zu beweisen, daß das pathologische Blutbild bei experimenteller Rachitis der weißen Ratten mit der rachitischen Erkrankung in kausalem Zusammenhang steht.

Wir haben als Versuchstiere weiße Albinoratten verwendet. Unsere Tiere haben wir in fünf Kategorien geteilt und zwar so, daß jeweils Tiere aus gleichem Stamm in den verschiedenen Versuchsarten geprüft werden. Die Ratten von der ersten Kategorie bekamen normale Kost und dienten als Kontrolltiere; die zweite Kategorie bekam nur Mac Collumkost Nr. 3143; die dritte Kategorie Versuchstiere bekam zu der Mac Collum-Kost als Zulage die Salze, die nach Osborne und Mendel sich in der Milch kleiner Tiere befinden, nämlich: $CaCO_3$ - 134'8, H_3PO_4 103'2, $NaCO_3$ - 34'2, H_2SO_4 - 9'2, Zitronensäure - 111'0 + 1'5 H_2O, Eisenzitrat - 6'34 + 1'5 H_2O, KJ - 0'02, NaF - 0'248, $H_2Al(SO_4)_2$ - 0'0245, $MgCO_3$ - 24'2, K_2CO_3 141'3, HCl - 53'4, Mg SO_4 - 0'79.

Dieses Salzgemisch wurde zur Mac Collum-Kost zu 3% gegeben, aber nicht vollkommen, sondern mit Ausnahme von $CaCO_3$ und H_3PO_4. Das haben wir getan um das Verhältnis des Phosphorcalciumgehaltes der Mac Collumkost nicht zu stören.

Die vierte Kategorie Versuchstiere bekamen zur Mac Collumkost bestrahltes Cholesterin als Zulage. Das bestrahlte Cholesterin stammte von der Firma Merk und war in 2,5% in Oel gelöst, eine Stunde mit Quarzlampe im 1 cm dicken Schicht auf 40 cm Abstand unter ständigem Bewegen bestrahlt. Die Cholesterinöllösung wurde zu 3% zu unserer Mac Collum-Kost gegeben. An den Ratten der fünften Kategorie haben wir als Zulage zu unserer Mac Collumkost unbestrahltes Cholesterin gegeben.

Die Ratten wurden 8 Wochen mit dieser Kostart gefüttert und von der dritten Versuchswoche ab auf ihr Blutbild untersucht.

Mittels eines Objektträgers wurde ein Tropfen Blut aus dem abgeschnittenen Schwanze der Ratte genommen

und durch ein Deckglas in dünner Schicht verstrichen. Das Streichpräparat wurde einige Stunden an der Luft trocken gelassen und nach Pappenheim gefärbt. Die gefertigten Präparate wurden auf pathologische Blutformen untersucht und auf das Verhältnis der weißen Blutzellen. Das Verhältnis wurde auf 1000 weiße Zellen gerechnet.

Die Kontrolltiere, die Normalkost erhielten, zeigten normale Blutverhältnisse. Auf 1000 weiße Blutzellen traten durchschnittlich 75% kleine Lymphocyten, 3,5% große Lymphocyten, 18% polymorphkernige Leukocyten, 1,5% Eosinophile, bis zu 1% Stabformen, bis 0,5% mononucleäre Zellen, 0,5% Uebergangsformen auf. Es zeigten sich ganz selten hie und da basophil gekörnte Leukocyten. Myelocyten und Myeloblasten traten nicht auf. Ab und zu fanden wir 4—6 Normoblasten auf 1000 weiße Blutzellen. Das Bild bleibt unverändert im Laufe der nächsten 4. 5. 6. und 7. Versuchswoche.

Die rachtischen Tiere dagegen zeigten schon am Anfang der 3. Woche ein vermehrtes Auftreten von Normoblasten, das im Laufe der folgenden Versuchswochen bis zu 30—35 auf 1000 weißen im Durchschnitt anstieg. Auftreten von Myelocyten machte sich bemerkbar besonders in der 5. 6. und 7. Woche, wo ihre Zahl auf 0,5% der gesamten weißen, zunahm. Myeloblasten konnten wir im Blutbilde nicht nachweisen. Es zeigte sich auch eine merkliche Vermehrung der mononucleären weißen Zellen und vielleicht eine Vermehrung der Eosinophilen. Einen Schluß über die letzte Veränderung konnten wir jedoch nicht mit Sicherheit ziehen, denn die Zahl der weißen Polynucleären variierte auch sonst ziemlich erheblich. Weiter zeigte sich eine deutliche Polychromasie und manchmal Poikilozytose. Das Wesentliche und Konstante blieb jedoch das Auftreten von Myelocyten und Normoblasten.

Unsere Versuchstiere von Kategorie III, die zur Mac Collumkost die Salze nach Osborne und Mendel als Zulage bekamen, um damit einem möglichsten Salzmangel in der Kost zu begegnen, zeigten in der

3. und 4. Versuchswoche das charakteristische Auftreten von Myelocyten und Normoblasten, also das Gesamtbild war wie bei rachitiskranken Tieren.

Die Tiere, welche bestrahltes Cholesterin als Zulage bekamen, (Kategorie IV) zeigten im Verlaufe des ganzen Versuches eine deutliche Verminderung der pathologischen Blutformen. Es trat nur in ganz vereinzelten Fällen eine Vermehrung der Normoblasten ein. Das Gesamtbild war aber eine Reduzierung der pathologischen Formen, beinahe bis zur normalen Grenze.

Die Ratten, die zur Mac Collumkost unbestrahltes Cholesterin bekamen zeigten fast das gleiche Blutbild wie die rachitischen Ratten, ja eine Ratte zeigte sogar eine außergewöhnlich starke Ueberschwemmung des Blutes mit Normoblasten, bis 350 auf 1000, also über ein Drittel der weißen Zellen. Die Zahl der roten und weißen Blutkörperchen verhielt sich in absoluten Werten wie folgt: Normale und rachitische Ratten hatten im Durchschnitt von 6,5—7,5 Millionen rote Blutkörperchen auf 1 ccm. Die weißen erreichten 9—12000 im Durchschnitt. Einen Unterschied zwischen rachitischen und Kontrollratten in dieser Beziehung konnte man nicht nachweisen. Auch der Haemoglobingehalt blieb ziemlich unverändert.

Eine Uebersicht über die Ergebnisse unserer Untersuchungen erweist folgendes:

1. Während die Normalratten, welche mit gewöhnlicher Kost aus Küchenabfällen gefüttert waren, keine Myelocyten und nur sehr vereinzelt Normoblasten aufweisen, treten solche Blutformen bei den mit Rachitiskost ernährten Versuchstieren mit Regelmäßigkeit auf.

2. Eine Erhöhung des Salzgehaltes der Versuchskost ergab keine Besserung der pathologischen Blutbilder. Es kann damit ausgeschlossen werden, daß ein zu geringes Mineralangebot in der Kost — abgesehen von dem zur Erzeugung der Rachitis notwendigen Phosphormangel an den Krankheitszeichen des Blutbildes ursächlich beteiligt ist.

3. Während eine Zugabe von unbestrahltem Cholesterin zur Versuchskost keine Besserung der pathologischen Blutbilderscheinungen erkennen ließ, blieben die Veränderungen bei Zugabe einer nach Lösung in Oel mit Höhensonne Hanau bestrahlten Cholesterin aus.

Es sei mir gestattet Herrn Geheimen Medizinalrat Professor Dr. C. Seitz für die liebenswürdige Uebernahme des Referates, Herrn Assistenzarzt Dr. E. Maurer für die freundliche Ueberlassung des Themas sowie Durchsicht und Anregung ergebenst zu danken.

Lebenslauf.

Geboren wurde ich Krestu Pentscheff am 21. IV. 1900 in Schumen/Bulgarien als Sohn des Kaufmanns Pentscheff.

Besuchte von 1914 bis 1918 das Staatsgymnasium in Warna.

Das Studium der Medizin begann ich im W.S. 1920/21 an der Universität Graz, das Physikum bestand ich im S. S. 1924 an der Universität München.